DiaSorin Inc
1951 Northwestern Ave – Stillwater, MN 55082 – EE.UU.
Tel 1.651.439.9710 – Fax 1.651.351.5669

Preste atención a los cambios!

LIAISON® Progesterone (310420)

1. INDICACIONES

El ensayo LIAISON® Progesterone es un inmunoensayo competitivo directo por quimiluminiscencia, que debe utilizarse con el LIAISON® Analyzer, y cuya finalidad es la determinación cuantitativa de progesterona en suero y plasma humanos. Este ensayo está indicado para controlar la ovulación en procedimientos de fertilización *in vitro* (FIV) y predecir el éxito del FIV.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

La progesterona (4-pregneno-3,20-diona) es una hormona esteroide con un peso molecular de 314. La segrega el cuerpo lúteo en mujeres no embarazadas y la placenta durante el embarazo. También la secretan la corteza suprarrenal y los testículos.[1] La progesterona se sintetiza a partir del colesterol y se une a la globulina fijadora de corticosteroides y, en menor grado, a la albúmina.[2]

La función primordial de la progesterona es preparar el útero para la implantación de un óvulo fertilizado y, si ésta se produce, mantener el embarazo. Durante un ciclo menstrual normal, los niveles de progesterona permanecen bajos en la fase folicular, suben tras la ovulación y alcanzan su máximo en la fase lútea media. Si no se produce implantación, los niveles de progesterona descienden durante la fase lútea tardía. Si se implanta un óvulo fertilizado, el cuerpo lúteo continúa secretando progesterona durante el primer trimestre de embarazo y después la placenta toma el relevo. Los niveles de progesterona continúan aumentando a lo largo del embarazo.[1]

El nivel de progesterona se mide para vigilar la ovulación en casos de fecundación in vitro[7] (FIV) y predecir el nivel de éxito de la FIV.[9,11] En casos de infertilidad, un bajo nivel de progesterona puede indicar una fase lútea deficiente.[1] Al principio del embarazo, un bajo nivel de progesterona indica un riesgo mayor de pérdida fetal.[6]

3. PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El método para la determinación cuantitativa de la progesterona es el inmunoensayo competitivo directo por quimiluminiscencia. Se une anticuerpo específico de progesterona a partículas magnéticas (fase sólida) y la progesterona se une a un derivado de isoluminol. Durante la incubación, la progesterona se disocia de la proteína de unión y compite con la progesterona marcada por los sitios de unión del anticuerpo. Después de la incubación, el material libre se elimina en un ciclo de lavado. A continuación se agregan los reactivos iniciadores y tiene lugar una reacción quimiluminiscente rápida. La señal luminosa se mide en unidades lumínicas relativas con un fotomultiplicador y es inversamente proporcional a la concentración de la progesterona presente en calibradores, controles o muestras.

4. MATERIAL SUMINISTRADO

Integrador de reactivos

Partículas magnéticas (2,3 ml)	Partículas magnéticas revestidas con anticuerpos anti-progesterona, tampón fosfato, azida sódica al <0,1%.
Conjugado (20 ml)	Progesterona conjugada con un derivado de isoluminol en tampón fosfato y azida sódica al <0,1%.
Número de pruebas	100

Incluidos con el integrador (2 frascos por kit)

Calibrador 1 (1,2 ml)	Suero humano sin hormonas, Proclin® 300 al 0,2% y progesterona.
Calibrador 2 (1,2 ml)	Suero humano sin hormonas, Proclin® 300 al 0,2% y progesterona.
Diluyente de muestras (2 ml)	Suero humano sin hormonas, Proclin® 300 al 0,2%.

ProClin® 300 es una marca comercial registrada de Rohm and Haas Co.

Todos los reactivos suministrados están listos para su uso.

Material necesario pero no suministrado	Material adicional recomendado
LIAISON® Module (319130)	LIAISON® Progesterone Control Set (310421)
LIAISON® Starter Kit (319102)	LIAISON® Cleaning Kit (310990)
LIAISON® Light Check (319101)	
LIAISON® Wash/System Fluid (319100)	
LIAISON® Waste Bags (450003)	

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso en diagnósticos *in vitro*

Reactivos que contienen material de origen humano

Trátense como potencialmente infecciosos.

Todas las unidades de suero/plasma usadas en la preparación de este producto se han comprobado mediante un método aprobado por la FDA estadounidense, demostrando no ser reactivas a la presencia de AgsHB, anticuerpos de VHC y anticuerpos de VIH 1/2. Aunque estos métodos son altamente precisos, no garantizan la detección de todas las unidades infectadas. Este producto también puede contener otros materiales de origen humano para los cuales no existe prueba homologada. Dado que ningún método de prueba puede garantizar plenamente la ausencia del virus de la hepatitis B, de la hepatitis C (VHC), el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) u otros agentes infecciosos, todos los productos que contengan material de origen humano se deben manejar de acuerdo con las prácticas de laboratorio correctas utilizando las precauciones adecuadas que se describen en "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 4ª ed., 1999 o actual, para centros de control de enfermedades e institutos nacionales de salud y prevención (Centers for Disease Control and Prevention/National Institute of Health) (publicación del HHS nº (CDC) 93-8395).

Algunos reactivos contienen azida sódica como conservante. La azida sódica puede formar azidas explosivas con las cañerías de plomo y cobre, por lo que es recomendable enjuagar a fondo los desagües con abundante agua tras eliminar soluciones con contenido de azida sódica.

Los reactivos que contienen ProClin® 300 se clasifican como irritantes según las Directivas Europeas aplicables:

R 43 - Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.

S 24 - Evítese el contacto con la piel.

S 37 - Úsense guantes adecuados.

S 60 - Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.

6. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

Absténgase de comer, beber, fumar y utilizar cosméticos en el laboratorio de ensayos.

No distribuya soluciones con la pipeta en la boca.

Evite el contacto directo con todos los materiales potencialmente infecciosos utilizando prendas protectoras, como batas de laboratorio, gafas protectoras y guantes desechables. Lávese las manos después de cada ensayo.

Evite las salpicaduras y la formación de aerosoles. Los reactivos derramados deben lavarse con una solución de hipoclorito al 5% y eliminarse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.

Todas las muestras, reactivos biológicos y materiales utilizados en el ensayo deben considerarse transmisores potenciales de agentes infecciosos. Por lo tanto, deben eliminarse en conformidad con la normativa vigente y las directrices de las agencias con jurisdicción sobre el laboratorio, así como la legislación nacional. Los materiales desechables deben incinerarse; los residuos líquidos deben descontaminarse con hipoclorito sódico a una concentración final del 5% durante al menos media hora.

7. PREPARACIÓN DEL INTEGRADOR DE REACTIVOS Y LOS CALIBRADORES

Antes de quitar el sello, es fundamental agitar suavemente y con cuidado el integrador de reactivos en sentido horizontal (sin formar espuma). Quite el sello y gire la rueda pequeña del compartimiento de partículas magnéticas hasta que la suspensión adopte un color marrón. Este procedimiento inicia la suspensión de las partículas magnéticas. Coloque el integrador de reactivos en la zona de reactivos del LIAISON® Analyzer y déjelo reposar durante 30 minutos antes de utilizarlo para asegurar la completa agitación y resuspensión de las partículas. Destapone los calibradores, colóquelos en la gradilla tipo "L" del LIAISON® Analyzer con el código de barras orientado hacia fuera y deslice la gradilla hacia el interior de la del área de muestras del LIAISON® Analyzer. Siga las instrucciones del manual del analizador para cargar las muestras e iniciar el ensayo.

8. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL INTEGRADOR DE REACTIVOS

A su recepción, almacene el integrador de reactivos boca arriba en la oscuridad para facilitar la resuspensión de las partículas magnéticas. Si el integrador de reactivos se almacena cerrado, protegido de la luz y en posición vertical, los reactivos son estables a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. No lo congele. El integrador de reactivos no debe utilizarse después de la fecha de caducidad indicada en el equipo y en las etiquetas correspondientes. Después de utilizarse, el integrador de reactivos debe sellarse con la cinta incluida en el equipo y almacenarse en el LIAISON® o volverse a guardar a 2-8 °C en la oscuridad. Los calibradores deben taponarse otra vez y volver a almacenarse a 2-8 °C. Una vez abiertos, pueden utilizarse durante cuatro semanas si se almacenan correctamente. Debe evitarse la exposición excesiva a la luz.

9. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Puede utilizarse suero o plasma humanos. Es recomendable tomar la muestra en ayunas, pero no es imprescindible. La sangre debe extraerse asépticamente por punción venosa y dejarse coagular; el suero ha de separarse del coágulo lo antes posible. Para mantener la integridad de la muestra no se requieren aditivos ni conservantes. Las muestras que presentan partículas, turbidez, lipemia o detritus de eritrocitos pueden necesitar clarificación por filtración o centrifugación antes de la prueba. No deben analizarse las muestras excesivamente hemolizadas o lipémicas ni las que contengan grandes cantidades de partículas o presenten una evidente contaminación microbiana. Antes del ensayo, compruebe si hay burbujas de aire y elimínelas. Si el ensayo se efectúa durante los siete días siguientes a la recogida de las muestras, éstas deben almacenarse a 2-8 °C; en caso contrario deben congelarse (-20 °C o menos). Las muestras pueden almacenarse en viales de vidrio o plástico. El volumen mínimo necesario es 300 µl de muestra para la primera prueba y 75 µl más por cada prueba adicional. Si las muestras se guardan congeladas, mézclelas bien antes del ensayo cuando las descongele. Evite ciclos repetidos de congelación-descongelación.

10. CALIBRACIÓN

Cada integrador de reactivos de progesterona tiene una etiqueta de código de barras con información específica sobre la calibración del lote de integrador de que se trate.
Es preciso calibrar de nuevo el ensayo:

- Con cada lote nuevo de reactivos (integrador de reactivos o reactivos iniciadores).
- Cada siete días.
- Después de una tarea de reparación o mantenimiento del LIAISON® Analyzer.
- Si los resultados del control de calidad están fuera del rango aceptable.

Rango de medida. El ensayo LIAISON® Progesterone de DiaSorin mide entre 0,4 y 40 ng/ml. El valor mínimo presentable es 0,4 ng/ml. Los valores inferiores a 0,4 ng/ml deben presentarse como < 0,4 ng/ml. El máximo valor presentable sin dilución es 40 ng/ml (consulte la sección 16, Dilución de las muestras, si el resultado excede de 40 ng/ml).

11. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Para asegurar el resultado correcto del ensayo, siga estrictamente las instrucciones de funcionamiento del LIAISON® Analyzer. Cada parámetro del ensayo se identifica con un código de barras en el integrador de reactivos. Si se produce un fallo de funcionamiento en el lector de código de barras, los datos pueden introducirse manualmente. Para obtener más información, consulte el manual del operador de LIAISON®.

Las operaciones del analizador son las siguientes:

1. Dispensar la muestra, el calibrador o el control en el módulo de reacción.
2. Dispensar las partículas magnéticas y el trazador en el módulo de reacción.
3. Incubar.
4. Lavar con líquido de sistema/lavado.
5. Agregar los reactivos iniciadores y medir la emisión de luz.

Controle la temperatura del laboratorio entre el momento de la calibración del ensayo y el del resultado de la muestra. Esta temperatura no debe variar más de ±1 °C.

12. CONTROL DE CALIDAD

Deben incluirse controles de calidad al final de cada dos gradillas de muestras o de acuerdo con las directrices o requisitos de los reglamentos locales, estatales y/o federales o de entidades autorizadas, así como con los procedimientos de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar la documentación de CLSI C24-A y 42 CFR 493.1256 para conocer las prácticas de control de calidad adecuadas. El LIAISON® Progesterone Control Set (nº de cat. 310421) es idóneo para la determinación de los requisitos de control de calidad de este ensayo. Antes de utilizar otros controles, es preciso evaluar su efectividad para comprobar su compatibilidad con este ensayo. Deberán establecerse rangos de valores apropiados para todos los materiales de control de calidad utilizados. Siempre que los resultados de control queden fuera de los rangos previstos, será necesario repetir la calibración y volver a analizar los controles y las muestras.

El intervalo de las concentraciones para cada control está impreso en el certificado de análisis e indica los límites definidos por DiaSorin para los valores de los controles obtenidos con test fiables.

13. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El LIAISON® Analyzer calcula automáticamente la concentración de progesterona en la muestra. Esta concentración se expresa en ng/ml. Para convertir los resultados en nmol/l: ng/ml x 3,18 = nmol/l.

14. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El LIAISON® Progesterone Kit ha demostrado ser sensible a la temperatura del laboratorio donde se encuentra el instrumento. La temperatura del laboratorio en el momento de la calibración debe ser de entre 20 °C y 26 °C. Para obtener resultados fiables son imprescindibles una técnica experta y el estricto cumplimiento de las instrucciones. La contaminación bacteriana o los ciclos repetidos de congelación-descongelación pueden afectar a los resultados del ensayo. Los resultados del ensayo deben utilizarse junto con otros datos clínicos y de laboratorio para ayudar al médico a decidir qué tratamiento aplicar a cada paciente.

15. VALORES PREVISTOS

Rango de referencia:

Es importante que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia con respecto a la población a la que atiende. El ensayo LIAISON® Progesterone se ha realizado con muestras de 125 hombres, 32 mujeres en tratamiento anticonceptivo oral, 30 mujeres posmenopáusicas y 90 mujeres embarazadas divididas por trimestres. Todos los individuos estaban aparentemente sanos. Se recolectaron muestras del ciclo menstrual de 32 mujeres aparentemente sanas de edades comprendidas entre 22 y 53 años. Las muestras de estas mujeres se recogieron semanalmente durante cinco semanas. Todas las muestras se analizaron con equipos de LH, FSH, estradiol y progesterona comercializados actualmente. Para determinar la fase del ciclo de cada muestra se utilizó la fecha indicada del último ciclo menstrual junto con los resultados del ensayo. Los resultados fueron los siguientes:

Población (N)	Promedio progesterona	Rango intermedio 95%
Hombres (125)	1,2 ng/ml	<0,4 – 2,7 ng/ml
Población (N)	**Promedio progesterona**	**Rango absoluto**
Mujeres:		
Fase folicular (66)	1,0 ng/ml	<0,4 –2,5 ng/ml
Fase lútea (93)	7,5 ng/ml	1,2 – 24,8 ng/ml
Fase lútea media (26)	13,6 ng/ml	5,5 – 24,8 ng/ml
Anticonceptivos orales (32)	0,9 ng/ml	<0,4 – 2,1 ng/ml
Posmenopausia (30)	0,6 ng/ml	<0,4 – 1,4 ng/ml
Mujeres embarazadas:		
Primer trimestre (30)	28,6 ng/ml	15,8 – 46 ng/ml
Segundo trimestre (30)	39,1 ng/ml	15,6 – 74 ng/ml
Tercer trimestre (30)	84,6 ng/ml	45 – 143 ng/ml

16. DILUCIÓN DE LAS MUESTRAS

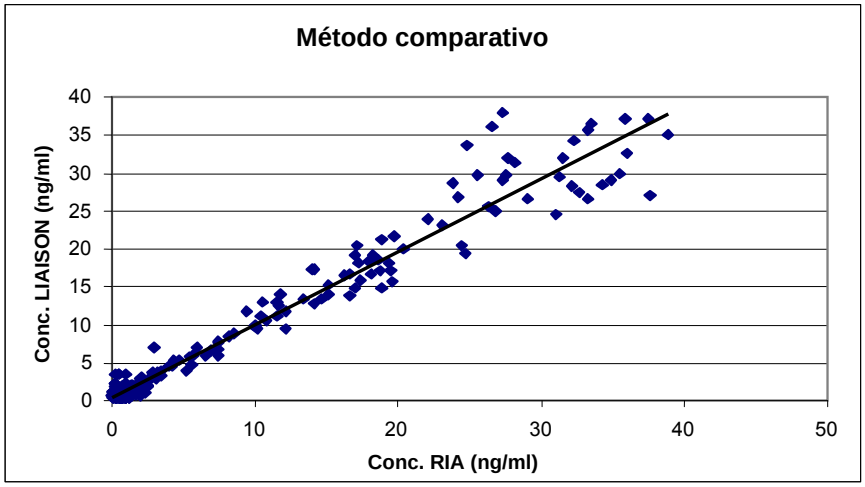
Las concentraciones superiores al rango del ensayo pueden diluirse con el diluyente de muestras suministrado y volverse a analizar. La dilución recomendada para las muestras que sobrepasen el rango del ensayo es de 1:10 (es decir, 50 µl de muestra + 450 µl de diluyente de muestras).

17. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL RESULTADO

17.1 Sensibilidad analítica: La sensibilidad analítica, definida como la dosis mínima detectable que puede distinguirse de cero con 2 desviaciones estándar, es de < 0,4 ng/ml.

17.2 Sensibilidad funcional: La sensibilidad funcional se define como la concentración a la que el % CV excede del 20%. La sensibilidad funcional derivada del análisis de regresión del perfil de precisión es de 1 ng/ml.

17.3 Método comparativo: Se analizó un total de 239 muestras clínicas con LIAISON® Progesterone y un método de radioinmunoensayo (RIA). Esta población incluía 44 muestras de hombres aparentemente sanos, 154 muestras de mujeres aparentemente sanas y 41 muestras de mujeres embarazadas. Todas las muestras quedaron dentro del rango del ensayo LIAISON® Progesterone, 0,4 – 40 ng/ml. La ecuación de regresión resultante fue: LIAISON® = 0,96 (RIA) + 0,48; r = 0,98.



17.4 Precisión: La precisión se evaluó según el EP5 del CLSI. Para determinar la repetibilidad y reproducibilidad del ensayo (es decir, la variabilidad intra e interensayo), se analizaron por duplicado seis muestras con concentraciones diferentes de analito dos veces al día durante veinte días de trabajo.

Repetibilidad	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Número de determinaciones	80	80	80	80	80	80
Promedio (ng/ml)	5,6	25,6	7,3	17,7	3,6	10,0
Desviación estándar (ng/ml)	0,5	1,2	0,5	0,8	0,3	0,5
Coeficiente de variación (%)	9%	5%	6%	4%	8%	5%

Reproducibilidad	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Número de determinaciones	80	80	80	80	80	80
Promedio (ng/ml)	5,6	25,6	7,3	17,7	3,6	10,0
Desviación estándar (ng/ml)	0,6	1,4	0,7	1,2	0,5	0,6
Coeficiente de variación (%)	11%	6%	9%	7%	15%	6%

17.5 Linealidad de la dilución: La veracidad del ensayo se verificó con la prueba de dilución. Se diluyeron y analizaron en serie tres muestras de paciente. Los resultados se analizaron como regresión lineal de los valores previstos *frente* a los valores observados. La ecuación de regresión resultante es: Observados = Previstos (1,01) – 0,13; r = 0,99.

Dilución	Concentración prevista (ng/ml)	Concentración observada (ng/ml)	Observada/Prevista (promedio)
Sin diluir		33,1	
1:2	16,5	16,9	
1:4	8,3	8,5	93%
1:8	4,1	3,9	
1:16	2,1	1,5	
Sin diluir		23,8	
1:2	11,9	10,5	
1:4	5,9	6,2	88%
1:8	3,0	2,6	
1:16	1,5	1,1	
Sin diluir		23,5	
1:2	11,8	12,3	
1:4	5,9	6,5	111%
1:8	2,9	3,2	
1:16	1,5	1,8	

17.6 Recuperación: Se agregó progesterona a muestras de suero de tres mujeres y tres hombres. Para determinar el % de recuperación, los valores observados se compararon con muestras de suero humano sin hormonas con la misma cantidad añadida de progesterona. El promedio de recuperación fue del 101%.

	Concentración observada (ng/ml)	Concentración prevista (ng/ml)	Observada/Prevista = % de recuperación
Mujer 1 - Sin diluir	7,9		
Adición baja	13,4	14,1	95
Adición media	21,7	20,5	106
Adición elevada	37,4	33,6	111
Prom. muestra			**104**
Mujer 2 - Sin diluir	4,5		
Adición baja	10,0	11,0	91
Adición media	15,7	16,8	93
Adición elevada	27,7	27,8	100
Prom. muestra			**95**
Mujer 3 – Sin diluir	5,4		
Adición baja	13,2	13,1	101
Adición media	19,3	21,0	92
Adición elevada	36,6	34,6	106
Prom. muestra			**100**
Hombre 1 - Sin diluir	1,6		
Adición baja	8,7	7,8	112
Adición media	15,5	14,2	109
Adición elevada	32,0	27,3	117
Prom. muestra			**113**
Hombre 2 - Sin diluir	1,6		
Adición baja	7,7	8,1	95
Adición media	13,1	13,9	94
Adición elevada	24,7	24,9	99
Prom. muestra			**96**
Hombre 3 - Sin diluir	1,4		
Adición baja	9,1	9,1	100
Adición media	16,7	17,0	98
Adición elevada	29,8	30,6	97
Prom. muestra			**98**
		Promedio de recuperación	**101%**

17.7 Especificidad: La reactividad cruzada del ensayo LIAISON® Progesterone se evaluó añadiendo las siguientes sustancias a los sueros de control. Se analizaron las muestras y se calculó el porcentaje de reactividad cruzada con la siguiente ecuación:

% reactividad cruzada = (Valor del ensayo/Concentración añadida)*100

Las reactividades cruzadas observadas se indican a continuación.

Reactivo cruzado	Concentración analizada (ng/ml)	% reactividad cruzada
Cortisol	1000	0,3
DHEA-S	100.000	0,0
17-Hidroxiprogesterona	100	3,9
Corticosterona	1000	0,7
Danazol	100	0,1
11-Desoxicorticosterona	1000	0,8
11-Deoxicortisol	1000	0,3
Estradiol	100	0,1
Pregnenolona	1000	0,2
Testosterona	100	1,6
20α-Dihidroprogesterona	1000	0,2

17.8 Interferencia de otras sustancias: Los estudios controlados sobre la interferencia de otras sustancias demuestran que el ensayo no se ve afectado por hemólisis (hasta 600 mg/dl), bilirrubina (hasta 25 mg/dl) ni colesterol (hasta 500 mg/dl). No se han hallado interferencias con hasta 360 ng/ml de anticuerpos humanos antirratón (HAMA). Las muestras con niveles de triglicéridos por encima del rango normal pueden presentar interferencias.

DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
P.O. Box 285
Stillwater, MN 55082-0285

EC REP DiaSorin S.p.A.,
13040 Saluggia (VC) Italy